

养殖青鱼组织状态评估及肠道消化酶和抗氧化酶分布特征

周丰林, 陶丽竹, 王安琪, 毛思琦, 徐晓雁, 李家乐, 沈玉帮

Evaluation of tissue status of cultured black carp and distribution characteristics of digestive enzyme and antioxidant enzyme in the intestine

ZHOU Fenglin, TAO Lizhu, WANG Anqi, MAO Siqi, XU Xiaoyan, LI Jiale, SHEN Yubang

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20200403006>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

大鳞副泥鳅肠道黏液细胞及消化酶活性分布特征研究

STUDY ON DISTRIBUTION CHARACTERISTICS OF INTESTINAL MUCOUS CELLS AND DIGESTIVE ENZYME ACTIVITIES IN *PARAMISGURNUS DABRYANUS*

水生生物学报. 2017, 41(5): 1048 <https://doi.org/10.7541/2017.131>

α -酮戊二酸对杂交鲟肠道形态、消化酶活力和抗氧化能力的影响

Effects of α -ketoglutarate supplementation on morphology, digestive enzyme activity and antioxidant capacity in intestine of hybrid sturgeon

大连海洋大学学报. 2015, 30(4): 363 <https://doi.org/10.16535/j.cnki.dlhyxb.2015.04.004>

配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼生长、存活和消化酶、非特异性免疫酶、代谢酶及抗氧化酶活性的影响

Effects of compound feed and live feed on the growth, survival, and the activities of digestive enzyme, nonspecific immunity enzyme, metabolic enzyme, and antioxidant enzyme of young fish *Coilia nasus*

水产学报. 2014, 38(12): 2029 <https://doi.org/10.3724/SP.J.1231.2014.49309>

两种养殖模式下泥鳅养成品体色、质构及其脏器消化酶、抗氧化酶和ATP酶活力的差异

Comparison of the Body Color, Texture, Activities of Viscera Digestive Enzymes, Antioxidant Enzymes and ATP Enzymes of Two Cultured Population of *Misgurnus anguillicaudatus*

渔业科学进展. 2017, 38(2): 121 <https://doi.org/10.11758/yykxjz.20160118001>

Mo^{6+} 对草鱼组织器官及抗氧化酶活性的影响

Effects of Molybdenum Ion on Histological Structure of Tissue and Organs and Antioxidant Enzyme Activity in Grass Carp

水产科学. 2017, 36(3): 317 <https://doi.org/10.16378/j.cnki.1003-1111.2017.03.010>

生物絮团养殖模式下益生菌添加对异育银鲫生长、消化酶活性及肠道组织结构的影响

Effects of probiotic addition on the growth performance, digestive enzyme activity, and intestinal morphology of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) cultured using biofloc technology

中国水产科学. 2018, 25(5): 1004 <https://doi.org/10.3724/SP.J.1118.2018.17450>

文章编号: 1674-5566(2021)02-0205-09

DOI:10.12024/jsou.20200403006

养殖青鱼组织状态评估及肠道消化酶和抗氧化酶分布特征

周丰林¹, 陶丽竹¹, 王安琪¹, 毛思琦¹, 徐晓雁¹, 李家乐^{1,2,3}, 沈玉帮³

(1. 上海海洋大学 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 水产养殖工程研究中心, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306)

摘要: 为了评估养殖条件下青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 不同组织的状态和分析青鱼不同肠段的功能分化, 使用组织学半定量系统对青鱼的鳃、肝、脾和肠进行评估, 并使用酶活检测分析青鱼不同肠段中消化酶和抗氧化酶的分布。结果表明: 青鱼的鳃、肝和脾的状况良好, 处于 I 级和 II 级变化, 肠道是最受影响的器官, 达到 III 级变化, 在肠道的组织学分析中发现肠黏膜上皮细胞增生和固有层易碎和坏死。青鱼的 Fulton 状态指数 (fulton's conditional factor, CF) 介于 1.01 到 2.30 之间, 均值为 1.19; 肝体指数 (hepatic somatic index, HSI) 介于 0.29 到 0.93 之间, 均值为 0.58, 表明被检测的青鱼状态良好。在青鱼的肠道中, 消化酶和抗氧化酶在不同肠段的分布存在显著差异, 前肠淀粉酶、脂肪酶和胰蛋白酶的活性显著高于后肠, 后肠中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性和总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC) 显著高于前肠。结果可以为养殖鱼类组织状态评估和肠道不同部分功能差异分析提供一定的参考资料。

关键词: 青鱼; 肠道; 组织学; 酶活; 健康评估

中图分类号: S 917 **文献标志码:** A

随着水产养殖业的迅速发展, 养殖水体的污染和生态环境的破坏等问题日益严重, 对养殖鱼类的健康造成了潜在威胁。鱼类的健康是建立在其自身器官健康、组织结构和功能完整的基础上的, 养殖鱼类的健康容易受水环境^[1]和饲料成分^[2]的影响, 这些影响会通过器官的组织学状态进行体现^[3]。同时, 鱼类的肠道不仅是消化吸收营养物质的主要场所, 还具有免疫的功能, 在鱼类的生长发育中起着至关重要的作用^[4]。国内外学者对鱼类的肠道进行了大量的研究, 根据组织形态的不同, 将鱼类的肠道分为前肠、中肠和后肠^[5]。前肠肠腔大, 肠绒毛长且排列密集, 有利于储存食物, 增加肠黏膜的表面积, 促进食物的消化吸收; 后肠肠腔小, 肠绒毛短, 对大分子抗原有很强的吸收能力^[6]。TAMOTSU 等^[7]研究发现金鱼 (*Carassius auratus* Linnaeus) 的前肠是吸收脂质的主要场所, 前肠黏膜上皮细胞内存在脂质

包含物, 被认为是脂质的临时储存处。谢碧文等^[8]发现瓦氏黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*) 后肠杯状细胞密度极高, 在促进粪便的排出及水分、盐分的重吸收过程中起着重要作用。

青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 是我国淡水养殖的“四大家鱼”之一, 以软体动物为食, 由于其具有产量大、风味好、营养价值高等特点, 深受广大消费者的喜爱。2016 年青鱼的养殖产量达到 632 万 t, 是联合国粮食及农业组织数据库中的重要水产养殖物种。消化酶活性与鱼类消化系统的功能相适应^[9], 抗氧化酶活性和总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, T-AOC) 与机体的免疫水平密切相关, 对于增强吞噬细胞的防御能力和机体免疫功能有重要作用^[10]。因此, 使用酶活检测方法分析了青鱼不同肠段的淀粉酶、脂肪酶、胰蛋白酶、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽还原酶 (glutathione

收稿日期: 2020-04-17

修回日期: 2020-05-20

基金项目: 现代农业产业技术体系项目 (CARS-45-03); 上海市工程中心提升项目 (19DZ2284300)

作者简介: 周丰林 (1994—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物种质资源与遗传育种。E-mail: 943722155@qq.com

通信作者: 李家乐, E-mail: jlli2009@126.com

reductase, GR)、过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性和 T-AOC,以期探讨青鱼不同肠段消化和免疫功能的差异。本研究结果丰富了青鱼健康养殖和肠道功能的特异性分化的生物学资料,为青鱼的消化生理和机体免疫提供了一定的基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼

实验所用青鱼均来自上海海洋大学滨海养殖基地,养殖过程中全程投喂青鱼配合饲料(通威股份有限公司),主要营养成分见表1。养殖期间每天(8:00,17:00)投喂配合饲料2次,日投喂量为池塘鱼体质量的5%,并于2019年4月随机挑选40尾体质量为(35±2)g,体长为(15±2)cm的青鱼,暂养于规格400L的水箱中1周。暂养期间,投喂时间和日投喂量与池塘养殖时一致,日换水量为水箱总体积的20%。

表1 青鱼配合饲料主要营养成分
Tab.1 Main nutritional components of black carp compound feed

项目 Items	质量分数 Mass fraction/%
粗蛋白质 Crude protein	30.00
粗纤维 Crude fiber	6.00
粗脂肪 Crude fat	4.00
粗灰分 Crude ash	16.00
水分 Moisture	12.00

1.2 实验方法

1.2.1 样本采集与生长指标测量

随机选取30尾青鱼用质量浓度为100mg/L的MS-222麻醉,使用游标卡尺称量体长,电子天平称量体质量和肝质量。将每尾鱼的鳃、肝、脾、肠取样并放入装有体积分数为4%的多聚甲醛离心管中固定48h,用于后续制作各个组织的冰冻切片。另取5尾青鱼用质量浓度为100mg/L的MS-222麻醉,取前肠段和后肠段,置于离心管中,快速液氮冷冻,-80℃保存,用于后续酶活检测。Fulton状态指数(fulton's conditional factor, CF)

和肝体指数(hepatic somatic index, HSI)计算公式如下:

$$F_{CF} = (W_1/L^3) \times 100 \quad (1)$$

$$I_{HSI} = (W_2/W_1) \times 100 \quad (2)$$

式中: F_{CF} 为Fulton状态指数; W_1 为青鱼体质量,g; L 为青鱼体长,cm; I_{HSI} 为肝体指数; W_2 为青鱼肝质量,g。

1.2.2 组织切片制作

固定好的组织用浓度为0.01mol/L的磷酸缓冲盐溶液(PBS)清洗,然后放入质量分数为25%的蔗糖溶液中脱水24h,冰冻切片机中包埋并切片(8μm),苏木精-伊红(H.E)染色试剂盒染色,中性树脂封片后置于光学显微镜下观察记录并拍照。

1.2.3 组织学评估

根据BERNET等^[11]提出的组织学半定量系统评估组织变化。包括:循环功能障碍、退行性性变、进行性性变、炎症和肿瘤5种反应模式。每种反应模式包含几种不同的组织变化,组织变化的程度用0~6的数值进行评分,重要性系数范围为1~3(表2)。组织变化的最终值等于该变化的分值乘以重要性系数。将不同反应模式包含的最终值相加,得出该反应模式指数,即:循环功能障碍指数(circulatory disturbance index, IC)、退行性性变指数(regressive changes index, IR)、进行性性变指数(progressive changes index, IP)、炎症指数(inflammation index, II)和肿瘤指数(tumour index, IT),各个器官所包含的最终值相加,得出该器官的器官指数(organ index, IO)。根据ZIMMERLI等^[12]的分类系统,使用器官指数将组织损伤的程度从正常到严重划分为5级,Ⅰ级(指数小于11):轻微至正常的组织学改变;Ⅱ级(指数11~20):正常至中等的组织学改变;Ⅲ级(指数21~30):中等的组织学改变;Ⅳ级(指数31~40):显著的组织学改变;Ⅴ级(指数大于40):严重的组织学改变。

表 2 组织病理学评估工具
Tab.2 Tools for histopathological assessment

反应模式 Reaction pattern	组织的功能结构 Functional unit of the tissue	变化 Alteration	重要性系数 Importance factor
循环功能障碍 Circulatory disturbances		出血/充血/动脉瘤	1
		细胞间水肿	1
退行性性变 Regressive changes	上皮细胞	结构变化	1
		血浆改变	1
		沉积	1
		细胞核改变	2
		萎缩	2
	固有层	坏死	3
		结构变化	1
		血浆改变	1
		沉积	1
		细胞核改变	2
进行性性变 Progressive changes	上皮细胞	肥大	1
		增生	2
	固有层	肥大	1
		增生	2
炎症 Inflammation		分泌物	1
		RES 活化	1
		浸润	2
肿瘤 Tumour		良性肿瘤	2
		恶性肿瘤	3

1.2.4 消化酶及抗氧化指标的检测

准确称取每条青鱼的前后肠组织各 0.1 g, 然后加入 0.9 mL 0.9% 的生理盐水, 使用低温匀浆仪和高速冷冻离心机制成质量分数为 10% 的组织匀浆。采用考马斯亮蓝法 (coomassie blue staining) 测定组织匀浆的蛋白质量浓度^[13]。使用南京建成生物工程研究所的相关试剂盒对脂肪酶、淀粉酶、胰蛋白酶、SOD、GR、CAT 的活性和 T-AOC 的含量进行测定, 用紫外可见分光光度计测定酶液的吸光度 (测定波长: 脂肪酶为 420 nm, 淀粉酶为 660 nm, 胰蛋白酶为 253 nm, SOD 为 550 nm, GR 为 340 nm, CAT 为 405 nm, T-AOC 为 405 nm), 然后根据试剂盒说明书中的公式分别计算脂肪酶、淀粉酶、胰蛋白酶、SOD、GR、CAT 的活性和 T-AOC。

1.3 数据分析

数据分析采用 SPSS 20.0 软件进行, 结果以平均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD) 来表示, 采用非参数 Kruskal-Wallis 检验各器官的组织学反应指标差异, 并进行多重比较, 使用 *t* 检验的方法来判断青鱼前肠和后肠消化酶和抗氧化能力的分布有无统计学意义上的差异, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 青鱼总体的健康指数

Fulton 状态指数和肝体指数用于评估青鱼总体的健康指数, CF 介于 1.01 到 2.30 之间, 均值为 1.19; HSI 介于 0.29 到 0.93 之间, 均值为 0.58 (表 3)。

表3 青鱼体况参数均值及范围
Tab.3 Mean and range of body condition parameters of black carp

项目 Items	体质量 Body mass/g	体长 Body length/cm	肝质量 Liver mass/g	Fulton 状态指数 CF	肝体指数 HSI
均值 Mean (CI)	33.72(31.90~35.55)	14.18(13.84~14.52)	0.19(0.17~0.21)	1.19(1.11~1.27)	0.58(0.54~0.63)
范围 Range	27.19~45.16	11.23~15.66	0.11~0.32	1.01~2.30	0.29~0.93
数目 Number/尾	29	29	29	29	29

2.2 青鱼的组织学反应指数

由表4可以看出,青鱼鳃、肝、脾和肠的器官指数依次为11.7、5.2、6.8和13.2,鳃和肠的器官指数显著大于肝和脾($P < 0.05$),肠的器官指

数大于鳃,但并未达到显著水平($P > 0.05$),同时,在青鱼的鳃、肝、脾和肠中都未检测到炎症指数和肿瘤指数。

表4 青鱼组织学反应指数
Tab.4 Histological response index of black carp

项目 Items	循环功能障碍指数 IC	退行性变指数 IR	进行性变指数 IP	炎症指数 II	肿瘤指数 IT	器官指数 IO
鳃 Gill	1.7 ± 1.2 ^b	5.7 ± 4.1 ^d	4.3 ± 2.1 ^c	0.0 ^a	0.0 ^a	11.7 ± 4.0 ^B
肝 Liver	0.2 ± 0.6 ^a	4.7 ± 3.8 ^b	0.0 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	5.2 ± 4.5 ^A
脾 Spleen	1.4 ± 1.2 ^b	3.7 ± 4.2 ^c	1.7 ± 2.0 ^b	0.0 ^a	0.0 ^a	6.8 ± 4.6 ^A
肠 Intestine	3.4 ± 1.9 ^b	4.8 ± 4.6 ^c	5.1 ± 1.8 ^c	0.0 ^a	0.0 ^a	13.2 ± 5.6 ^B

注:组织内和组织间的组织学反应指数分别以不同的大小写字母表示(Kruskal-Wallis, $P < 0.05$)。相同的字母表示没有显著差异($P > 0.05$)。

Notes: Within and among organ differences in histological reaction indices indicated by different small and capital letters, respectively(Kruskal-Wallis at $P < 0.05$). Similar letters indicate no significant differences($P > 0.05$).

2.3 青鱼组织学观察与评估

在本实验中,青鱼的鳃、肝和脾均处于I级和II级变化,肠道达到了III级变化(图1)。光学显微镜下可观察到鳃上皮细胞增生和坏死,肝组

织轻微扩张的正弦曲线变化和点状坏死,脾脏组织坏死以及肠黏膜上皮细胞增生和固有层易碎坏死(图版)。

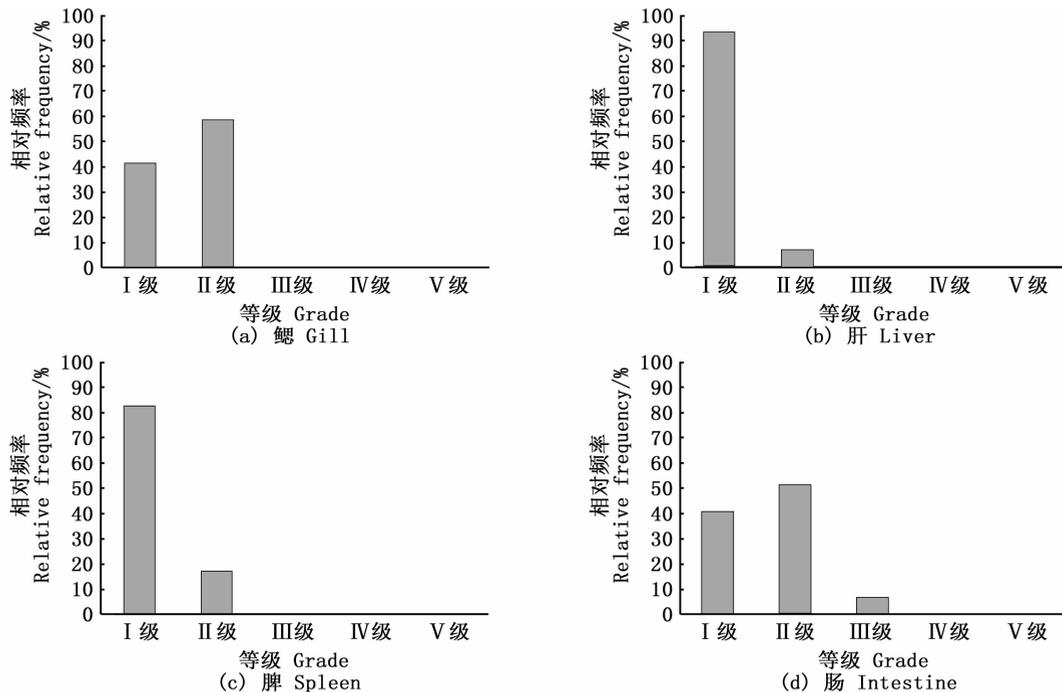


图1 青鱼组织变化的严重程度
Fig.1 Severity of black carp tissue change

2.4 青鱼不同肠段的消化酶及抗氧化指标的检测

由表 5 可知,前肠中与消化相关的淀粉酶、脂肪酶和胰蛋白酶的活性显著高于后肠($P < 0.05$),消化酶中,胰蛋白酶的活性最高,脂肪酶

的活性次之,淀粉酶的活性最低。后肠中与抗氧化能力相关的 SOD、GR、CAT 的活性和 T-AOC 显著高于前肠($P < 0.05$)。

表 5 青鱼前肠和后肠中的消化酶与抗氧化指标

Tab.5 Digestive enzymes and antioxidant index in the foregut and hindgut intestines of black carp

项目 Items	前肠 Foregut	后肠 Hindgut
消化酶 Digestive enzyme		
淀粉酶 Amylase/(U/mg)	12.72 ± 3.69	3.47 ± 0.93 *
脂肪酶 Lipase/(U/g)	333.27 ± 45.10	150.44 ± 20.71 *
胰蛋白酶 Trypsin/(U/mg)	5 261.79 ± 145.08	3 533.85 ± 467.68 *
抗氧化指标 Antioxidant index		
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg)	26.69 ± 11.61	90.28 ± 6.07 *
谷胱甘肽还原酶 GR/(U/g)	12.57 ± 2.02	23.47 ± 4.06 *
过氧化氢酶 CAT/(U/mg)	3.65 ± 0.18	4.98 ± 0.18 *
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mg)	0.16 ± 0.04	0.29 ± 0.16 *

注:后肠组数据标“*”表示与前肠组差异显著($P < 0.05$)。

Notes: Value in the hindgut with “*”superscripts indicate significant difference compared with the foregut ($P < 0.05$).

3 讨论

通过分析养殖青鱼的 CF、HSI 和鳃、肝、脾、肠的组织学反应指数及消化酶和抗氧化能力在不同肠段的分布,可以更好地了解养殖青鱼的健康状态和不同肠段的功能分化。

CF 是反映鱼类能量储存状况和健康状态的参考指标,相关研究^[14]表明,CF 较高的动物其运动能力和存活率显著高于 CF 较低动物。LLORET 等^[15]在海洋鱼类资源状况及健康指标的研究中指出,CF 大于 1 表明鱼类健康状态良好,CF 小于 1 表明鱼类健康状态欠佳。本研究结果显示:青鱼的 CF 介于 1.01 到 2.30 之间,均值为 1.19,表明被检测的青鱼健康状态良好。HSI 是衡量动物营养状况的参考指标,HSI 随着饲料的营养程度和投喂的充足程度的增加而变大,本实验检测到的 HSI 介于 0.29 到 0.93 之间,均值为 0.58,这与营养实验研究中观察到的数据相比较低,可能是由于在营养实验研究中,需要对目标鱼类投喂不同的饲料,从而使营养物质积累于肝脏,增大了 HSI 的值。例如:汪开毓等^[16]在研究草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)肝脏对高脂饲料的代谢调控机制中发现,投喂 8.1% 脂肪的饲料时,草鱼的 HSI 为 2.51,显著高于投喂 4.6% 脂肪的饲料组;原居林等^[17]研究发现,投喂配合饲料组乌鳢(*Channa argus*)的 HSI 为 2.59,显著高于

投喂冰鲜鱼组乌鳢的 HSI。

组织学分析显示,青鱼的鳃、肝和脾正常,处于 I 级和 II 级变化,肠道达到了 III 级变化。在对肠道的组织学分析中发现肠黏膜上皮细胞有增生和固有层易碎坏死的现象。SARAIVA 等^[18]的研究中也发现了相似情况。肠道是鱼类消化和吸收营养的主要场所,与鱼类的生长、发育和繁殖等生命活动直接相关,也会参与免疫反应^[19]。因此,进一步研究青鱼不同肠段消化酶及抗氧化能力的分布,从而分析青鱼不同肠段功能的差异。

淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶可以作为评估肠道消化吸收功能的重要指标^[20]。淀粉酶将淀粉催化分解成单糖^[21],脂肪酶能够将食物中的脂肪分解为脂肪酸和甘油分子^[22],胰蛋白酶是肠道中最丰富的蛋白酶,它将食物中的蛋白质水解为可供机体吸收的氨基酸^[23]。AGRAWAL 等^[24]在比较草食性、肉食性和杂食性鱼类的淀粉酶和脂肪酶活性差异的研究中发现,脂肪酶活性在肉食性鱼类中较高,淀粉酶活性在草食性鱼类中较高。在青鱼肠道中我们发现类似的结果,即:胰蛋白酶活性 > 脂肪酶活性 > 淀粉酶活性。同时,前肠中淀粉酶活性、脂肪酶活性和胰蛋白酶活性均显著大于后肠。付新华等^[25]在大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)消化酶活性的研究得到了相同的结果。以上结果表明青鱼的前肠可

能是其消化吸收营养物质的主要部位。

抗氧化酶(SOD、GR、CAT)的活性和T-AOC与机体的免疫水平密切相关,对于增强吞噬细胞的防御能力和机体的免疫功能有重要作用,其作用机理是清除机体中多余的氧自由基,从而保护机体免受损伤^[26-28]。T-AOC反映了机体抗氧化系统的功能状况^[29]。SOD是机体内重要的抗氧化酶和机体内清除自由基的首要物质,在催化过氧化物歧化成过氧化氢和氧气的过程中发挥着重要的作用^[30]。研究发现,黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)在受到草甘膦染毒后,其肝脏和肾脏中的SOD活性和CAT活性增大^[31]。CAT能够清除SOD催化活性氧自由基所产生的H₂O₂,从而促使它转化为对机体无害的H₂O和O₂^[32]。孙虎山等^[33]发现栉孔扇贝(*Chamys farreri*)在受到大肠杆菌感染后,其血清中的CAT活性在15h后显著提高。GR是一种核黄素蛋白,它可以利用还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)将氧化型谷胱甘肽(glutathiol, GSSG)催化反应成还原型谷胱甘肽(glutathione, GSH)^[34],对于维持生物体GSH/GSSG的稳定和保持机体氧自由基的平衡起着关键作用^[35]。研究结果显示,SOD、GR、CAT的活性和T-AOC在青鱼的后肠中显著高于前肠,JIANG等^[36]在维生素A对草鱼肠道影响的研究中也得到了相似的结果。这在一定程度上表明后肠在抵御机体氧化损伤、抗应激和保护肠道健康中起着关键的作用。

通过组织学和酶活检测的方法对养殖青鱼的组织状态及消化酶和抗氧化能力在肠道的分布进行研究,为青鱼的健康养殖和不同肠段在消化和免疫机制上的差异提供了一定的基础资料。

参考文献:

- [1] HARIMANA Y, TANG X, LE G W, et al. Quality parameters of black carp (*Mylopharyngodon piceus*) raised in lotic and lentic freshwater systems [J]. LWT-Food Science & Technology, 2018, 90: 45-52.
- [2] 陈书健, 吴成龙, 叶金云, 等. 饲料中维生素A对青鱼幼鱼生长、血清生化指标和肝脏糖脂代谢酶活性及基因表达的影响[J]. 水产学报, 2020, 44(1): 85-98.
CHEN S J, WU C L, YE J Y, et al. Effect of dietary vitamin A on growth, serum biochemical index, digestive enzyme activities and glucose and lipid metabolism in juvenile *Mylopharyngodon piceus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2020, 44(1): 85-98.
- [3] VAN DER OOST R, BEYER J, VERMEULEN N P E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2003, 13(2): 57-149.
- [4] URÁN P A, GONCALVES A A, TAVERNE-THIELE J J, et al. Soybean meal induces intestinal inflammation in common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2008, 25(6): 751-760.
- [5] 倪达书. 草鱼消化道组织学研究[J]. 水生生物学集刊, 1963(3): 12-15.
NI D S. Histological study of grass carp digestive tract [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1963(3): 12-25.
- [6] 涂永锋, 宋代军. 鱼类肠道组织结构及其功能适应性[J]. 江西饲料, 2004(4): 16-19.
TU Y F, SONG D J. The structure and function of fish digestive system and the distribution and characteristics of digestive enzymes [J]. Jiangxi Feed, 2004(4): 16-19.
- [7] TAMOTSU I. The comparative study of the digestive tract of teleost larvae-V: Fat absorption in the gut epithelium of goldfish larvae [J]. Bull Japanese Society Science Fishery, 1968, 34(1): 46-61.
- [8] 谢碧文, 王志坚. 瓦氏黄颡鱼消化系统组织学的初步研究[J]. 内江师范学院学报, 2002, 17(2): 22-27.
XIE B W, WANG Z J. Studies on histology of digestive system of *Pelteobagrus vachelli* [J]. Journal of Neijiang Teachers College, 2002, 17(2): 22-27.
- [9] 刘峰, 吕小康, 刘阳阳, 等. 禁食对大黄鱼幼鱼消化酶活性的影响研究[J]. 中国海洋大学学报, 2018, 48(s1): 16-22.
LIU F, LYU X K, LIU Y Y, et al. Effect of fast on digestion enzyme activity of juvenile large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. Periodical of Ocean University of China, 2018, 48(s1): 16-22.
- [10] 李京昊, 成永旭, 王海锋, 等. 利用生物絮团技术对克氏原螯虾的养殖效果初探[J]. 水产学报, 2019, 43(4): 968-977.
LI J H, CHENG Y X, WANG H F, et al. A preliminary study on the feeding effect of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) using biofloc technology [J]. Journal of Fisheries of China, 2019, 43(4): 968-977.
- [11] BERNET D, SCHMIDT H, MEIER W, et al. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution [J]. Journal of Fish Diseases, 1999, 22(1): 25-34.
- [12] ZIMMERLI S, BERNET D, BURKHARDT-HOLM P, et al. Assessment of fish health status in four Swiss rivers showing a decline of brown trout catches [J]. Aquatic Sciences, 2007, 69(1): 11-25.
- [13] 赵峰, 庄平, 章龙珍, 等. 施氏鲟不同组织抗氧化酶对水体盐度升高的响应[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(5): 65-69.
ZHAO F, ZHUANG P, ZHANG L Z, et al. Responses of

- antioxidases in different tissues of *Acipenser schrenckii* to increased salinity in water[J]. *Marine Fisheries Research*, 2008, 29(5): 65-69.
- [14] LOWE W H, LIKENS G E, COSENTINO B J. Self-organisation in streams; the relationship between movement behaviour and body condition in a headwater salamander[J]. *Freshwater Biology*, 2006, 51(11): 2052-2062.
- [15] LLORET J, SHULMAN G, MALCOLM L R. Condition and health indicators of exploited marine fishes[M]. Hoboken: John Wiley & Sons, Ltd, 2014.
- [16] 汪开毓, 苗常鸿, 黄锦炉, 等. 投喂高脂饲料后草鱼主要生化指标和乙酰辅酶 A 羧化酶 1 mRNA 表达的变化[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(12): 2375-2383.
- WANG K Y, MIAO C H, HUANG J L, et al. Changes in main biochemical indices and acetyl-CoA carboxylase 1 mRNA expression of grass carp fed a high-fat diet [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(12): 2375-2383.
- [17] 原居林, 郭建林, 刘梅, 等. 不同饲料类型和放养密度对乌鳢生长特性及营养品质的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2017, 32(5): 534-543.
- YUAN J L, GUO J L, LIU M, et al. Comparison of growth performances and nutritional quality of muscle in snakehead *Channa argus* fed different diets at different stocking densities [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2017, 32(5): 534-543.
- [18] SARAIVA A, COSTA J, SERRÃO J, et al. A histology-based fish health assessment of farmed seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 375-381.
- [19] SONG X H, ZHAO J, BO Y X, et al. *Aeromonas hydrophila* induces intestinal inflammation in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*): An experimental model [J]. *Aquaculture*, 2014, 434: 171-178.
- [20] 梅景良, 马燕梅, 张红星, 等. 夏、冬两季黑鲟消化酶活力的比较及反应温度和 pH 对酶活力的影响[J]. *海洋学报*, 2006, 28(4): 167-171.
- MEI J L, MA Y M, ZHANG H X, et al. Comparison between digestive enzyme activities of *Sparus macrocephalus* in summer and winter and study on the effects of reactive temperature and pH on these activities [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2006, 28(4): 167-171.
- [21] 叶元土, 林仕梅, 罗莉, 等. 温度、pH 对南方大口鲶、长吻鮠蛋白酶和淀粉酶活力的影响[J]. *大连水产学院学报*, 1998, 13(2): 17-23.
- YE Y T, LIN S M, LUO L, et al. The effect of temperature and pH value on activities of proteases and amylases from *Silurus meridionalis* and *Leiocassis longirostris* [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 1998, 13(2): 17-23.
- [22] 李瑾, 何瑞国, 王学东. 中华鲟消化系统内消化酶活性分布[J]. *中国饲料*, 2002(21): 18-20.
- LI J, HE R G, WANG X D. The distribution of digestive enzyme activities in digestive system of Chinese sturgeon [J]. *China Feed*, 2002(21): 18-20.
- [23] 黄耀桐, 刘永坚. 草鱼肠道胰脏蛋白酶活性初步研究[J]. *水生生物学报*, 1988, 12(4): 328-334.
- HUANG Y T, LIU Y J. Study on protease activity in the intestine and hepatopancreas of grass carp, *Ctenopharyngodon Idellus* (C. ET V.) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1988, 12(4): 328-334.
- [24] AGRAWAL V P, SASTRY K V, KAUSHAB S K. Digestive enzymes of three teleost fishes [J]. *Acta Physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 1975, 46(2): 93-98.
- [25] 付新华, 孙谧, 孙世春. 大菱鲂消化酶的活力[J]. *中国水产科学*, 2005, 12(1): 26-32.
- FU X H, SUN M, SUN S C. Activity of digestive enzymes in *Scophthalmus maximus* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 12(1): 26-32.
- [26] 王宝维, 隋丽, 岳斌, 等. 发酵葡萄籽粕对 5~12 周龄五龙鹅消化生理、免疫器官指数和抗氧化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2016, 28(1): 163-171.
- WANG B W, SUI L, YUE B, et al. Effects of zymotic grape seed meal on digestive physiology, immune organ indices and antioxidant indices of Wulong geese aged from 5 to 12 Weeks [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2016, 28(1): 163-171.
- [27] 邹慧, 李丹丹, 陈静, 等. 富硒女贞子对热应激乳腺上皮细胞增殖、凋亡及抗氧化功能的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2015, 46(6): 1047-1054.
- ZOU H, LI D D, CHEN J, et al. Influence of se-enriched *Ligustrum lucidum* fruit on proliferation, Apoptosis and antioxidant activity of mammary epithelial cells under heat stress [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2015, 46(6): 1047-1054.
- [28] 刘旺景, 敖长金, 丁赫, 等. 不同饲料添加剂对杜寒杂交肉羊体脂脂肪酸组成和氧化稳定性的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(9): 3759-3771.
- LIU W J, AO C J, DING H, et al. Effects of different feed additives on fatty acid composition and oxidation stability of body fat in dorper thin-Tailed Han crossbred mutton lambs [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2018, 30(9): 3759-3771.
- [29] 汪水平, 王文娟, 左福元, 等. 中药复方对夏季肉牛的影响: II. 血气指标、血清代谢产物浓度及免疫和抗氧化功能参数[J]. *畜牧兽医学报*, 2011, 42(5): 734-741.
- WANG S P, WANG W J, ZUO F Y, et al. Effect of Chinese medicine prescription on beef cattle in summer: II. the blood gas analysis, the concentration of metabolites and the parameters of the immune and antioxidant capability in the serum [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2011, 42(5): 734-741.
- [30] ANDREYEV A Y, KUSHNAREVA Y E, STARKOV A A. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species [J]. *Biochemistry (Moscow)*, 2005, 70(2): 200-214.
- [31] 高爱保. 草甘膦对黑斑蛙主要器官中抗氧化酶的影响

- [J]. 江苏农业科学, 2020, 48(1): 278-281.
- GAO A B. Effects of glyphosate on antioxidant enzymes in main organs of *Rana nigromaculata*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2020, 48(1): 278-281.
- [32] SARKAR S, YADAV P, TRIVEDI R, et al. Cadmium-induced lipid peroxidation and the status of the antioxidant system in rat tissues [J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 1995, 9(3): 144-149.
- [33] 孙虎山, 李光友. 大肠杆菌感染后栉孔扇贝血淋巴中 7 种酶活力的变化[J]. 海洋科学, 1999, 23(5): 40-43.
- SUN H S, LI G Y. Activity change of seven enzymes in haemolymph in scallop *Chlamys farreri* after challenge with *Escherichia coli*[J]. Marine Sciences, 1999, 23(5): 40-43.
- [34] 赵妍, 马丹丹, 姜威, 等. 草菇谷胱甘肽还原酶基因受低温影响的表达研究[J]. 生物学杂志, 2015, 32(1): 44-47.
- ZHAO Y, MA D D, JIANG W, et al. The relative expression of glutathione reductase gene in *Volvariella volvacea* during low temperature stress [J]. Journal of Biology, 2015, 32(1): 44-47.
- [35] 张兵, 杨细飞, 王晓梅, 等. 纳米二氧化硅对 HaCaT 细胞谷胱甘肽还原酶表达及活力的影响[J]. 环境与健康杂志, 2010, 27(7): 581-584.
- ZHANG B, YANG X F, WANG X M, et al. Effects of SiO₂ nanoparticles on expression and activity of glutathione reductase in HaCaT cells [J]. Journal of Environment and Health, 2010, 27(7): 581-584.
- [36] JIANG W D, ZHOU X Q, LIU Y, et al. Vitamin A deficiency impairs intestinal physical barrier function of fish [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 87: 546-558.

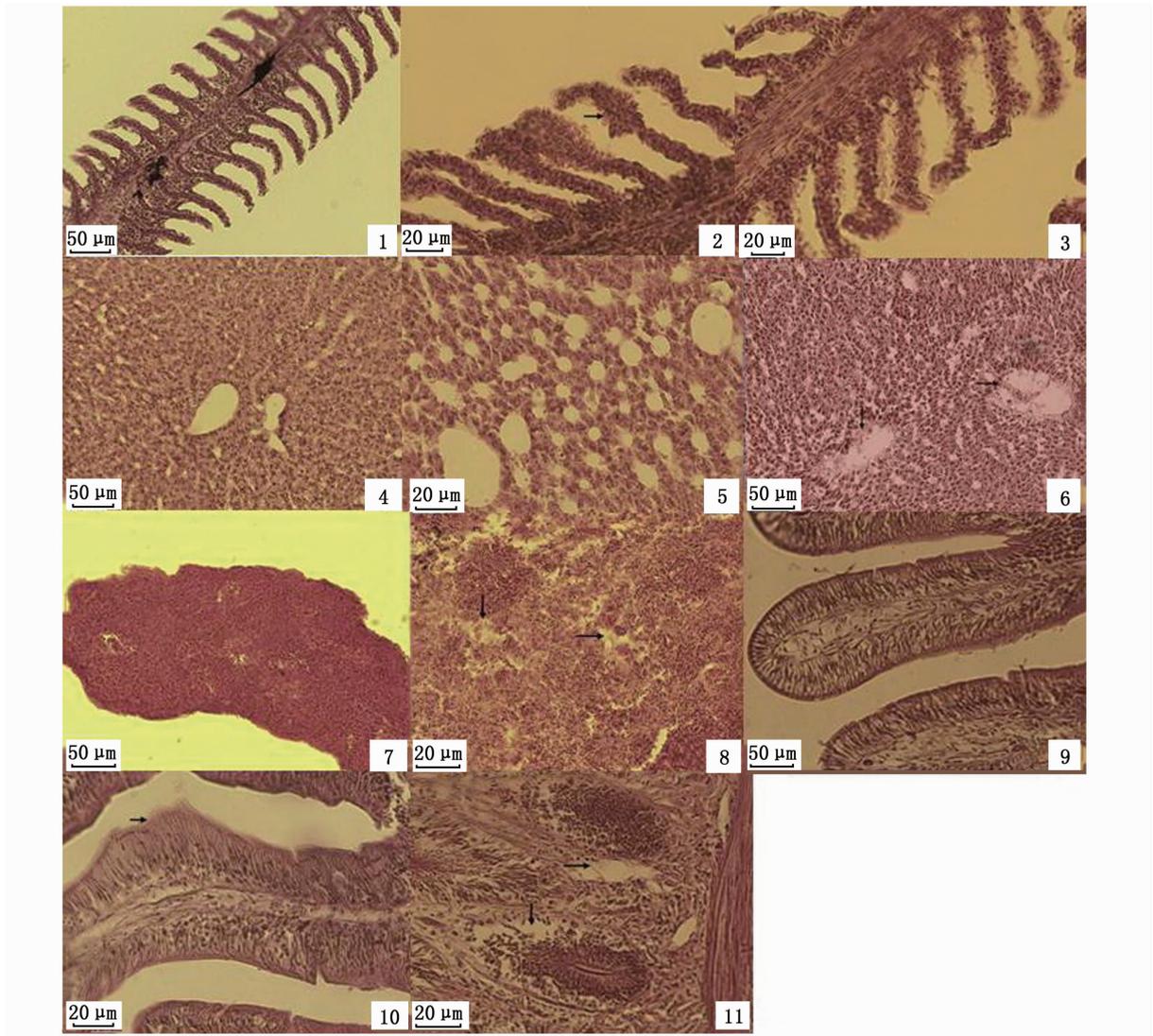
Evaluation of tissue status of cultured black carp and distribution characteristics of digestive enzyme and antioxidant enzyme in the intestine

ZHOU Fenglin¹, TAO Lizhu¹, WANG Anqi¹, MAO Siqi¹, XU Xiaoyan¹, LI Jiale^{1,2,3}, SHEN Yubang³

(1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to evaluate the status of different tissues and analyze the functional differentiation of different intestinal segments of black carp under cultivation conditions, histological semi-quantitative system was used to evaluate the gill, liver, spleen and intestine and enzyme activity detection method was used to analyze the distribution of digestive enzyme and antioxidant enzyme in different intestinal segments of black carp. The results showed that the gill, liver, and spleen of black carp were in good condition and with class I and class II changes and the intestine was the most affected organ and with class III changes. Mucosal epithelial cell hyperplasia and lamina propria friable and necrotic were found in Intestinal histological analysis. Fulton's Conditional factor (CF) of the black carp ranged from 1.01 to 2.30 with an average value of 1.19 and Hepatic somatic index (HSI) ranged from 0.29 to 0.93 with an average of 0.58, which indicated that the detected black carp were in good condition. The distribution of digestive enzyme and antioxidant enzyme in the different intestine segments was significant differences and the activity of amylase, lipase and trypsin in foregut is significantly higher than hindgut. Different from the digestive enzyme, the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GR), catalase (CAT) and total antioxidant capacity (T-AOC) in the hindgut were significantly higher than foregut. The results can provide references for the evaluation of the tissue status of cultured fish and the analysis of the functional differences between different parts of the intestine.

Key words: *Mylopharyngodon piceus*; intestine; histology; enzyme activity; health evaluation



1. 正常鳃组织; 2. 鳃上皮细胞增生(箭头); 3. 鳃组织坏死; 4. 正常肝组织; 5. 肝脏轻微扩张的正弦曲线变化; 6. 肝组织点状坏死(箭头); 7. 正常脾组织; 8. 脾组织坏死(箭头); 9. 正常肠道组织; 10. 肠黏膜上皮增生(箭头); 11. 肠固有层易碎坏死(箭头)。
 1. Normal gill tissue; 2. Epithelial hyperplasia of gill (arrow); 3. Necrosis of gill tissue; 4. Normal liver tissue; 5. Slightly dilated sinusoid of liver; 6. Spotty necrosis of liver (arrow); 7. Normal spleen tissue; 8. Necrosis of spleen tissue (arrow); 9. Normal intestine tissue; 10. Mucosal epithelial hyperplasia of intestinal (arrow); 11. Intestinal lamina propria friable and necrotic (arrow).

图版 青鱼组织变化特征的代表性切片

Plate Representative images of histological change of black carp